

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОФОРМ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В П ОЛИАКРИЛАМИДНОМ ГЕЛЕ

Секерина Е.М.

ФГАОУ ВПО «Уральский Федеральный Университет имени первого Президента России
Б.Н.Ельцина», г. Екатеринбург, ул. Мира, 19.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент углеводного обмена, который катализирует важнейшую реакцию гликолиза – взаимопревращение молочной и пировиноградной кислот. Это олигомерный белок, состоящий из 4 субъединиц 2 типов, комбинация которых лежит в основе формирования 5 изоформ лактатдегидрогеназы.

Изоформы ЛДГ отличаются электрофоретической подвижностью, что позволяет исследовать их индивидуальную ферментативную активность при различных заболеваниях. Известно, что исследование отдельных изоферментов является более специфическим методом лабораторной диагностики, чем определение общей активности этого фермента в сыворотке крови (Leung F.Y., 1979).

Таким образом, целью нашей работы являлась отработка методики определения изоформ ЛДГ в плазме крови методом электрофореза в полиакриламидном геле.

Была использована следующая методика (Favero T.G., 1999): 7,7% р-р акриламида (2,66% метиленбисакриламид) в 375 мМ трис-HCl буфере (pH=9,7), 100 мМ трис-300мМ глициновый электродный буфер, 3 часа при напряжении 140 V. Идентификация изоформ проводилась путем окраски геля в растворе, содержащем 2,5 мМ ЭДТА, 0,3 мМ НАД, 75 мМ лактата, 0,16 мМ феназин метасульфата, 0,18 мМ нитросинего тетразолия.

В ходе апробации методики было установлено, что для получения удовлетворительного разделения необходима модификация условий электрофоретического разделения. Экспериментально определено, что наилучшие результаты получались при соблюдении следующих условий: 6% р-р акриламида (2,66% метиленбисакриламид) в 375 мМ трис-HCl буфере (pH=9,2), 100 мМ трис-300мМ глициновый электродный буфер, 30 мин при напряжении 200V, затем 2,5 часа при напряжении 230V.

1. Leung F.Y., Henderson A.R. // Clin. Chem. 1979. V. 25. P. 209–212
2. Favero T.G., Stavrianeas S., Klug G.A. // Exp. Phys. 1999. V. 84. P. 989-998